HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	サワシバ Carpinus cordate Blume 材の抽出成分
Author(s)	澤, 裕治; 笹谷, 宜志; 小澤, 修二
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 16(2), 183-193
Issue Date	1988-10-31
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/12092
Type	departmental bulletin paper
File Information	16(2)_p183-193.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

サワシバ *Carpinus cordata* Blume 材の抽出成分†

澤　裕治*・笹谷宜志・小澤修二
(北海道大学農学部木材化学教室)
(*山陽国策パルプ株式会社)

(昭和63年5月26日受理)

Wood Extractives of *Carpinus cordata* Blume

Yuji SAWA*, Takashi SASAYA and Shuji OZAWA
(Laboratory of Wood Chemistry, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, 060 Japan)
(*Sanyo Kokusaku Pulp Co. Ltd., Tokyo, 100 Japan)

1. 緒　　言

樹木の抽出成分は広範囲の化合物群にわたっているが，マツ属の stilbenes 類[1]，サクラ属の flavonoids[2] のように樹種，属に特有の成分および化合物群が見いだされる。そのため，抽出成分は木材の基礎，応用研究の対象とされることが多い。抽出成分のパルプ工業における蒸解，漂白工程での関わり[3]，さらに木材工業における木質系製品の製造工程での阻害要因としての関わり[4]も見逃せない。

一方，抽出成分は木材の形成過程，とくに心材形成に際し，定性的ではあるが関与しているとの知見が提案されている[5,6]。さらに，樹幹内横断面での抽出成分の分布は辺材より心材への移行で著しい量的，質的変化が観察され，心材形成と抽出成分の関わりを予測し得る[7a,b]。樹種に固有の抽出成分の存在は，その生合成過程の知見と共に，樹種の識別に利用し得る[8]。

カバノキ科 *Betulaceae* の樹木は C_6-C_7-C_6 の基本的炭素骨格をもつフェノール類・diarylheptanoids を含有している。この化合物は現在までに，鎖状 (開環型)[9a] また，末端アリル基間で *m*-*m'* 架橋[10]，*m*-o-*p'*[11] で結合した閉環型，さらに高度に縮環した構造[9b] の成分が単離されている。カバノキ科は2つの tribus, *Betuleae*, *Coryleae* からなり，前者には *Alnus*, *Betula* の2属が，また，後者には *Corylus*, *Carpinus*, *Ostrya*, *Ostryopsis* の4属が分類されている[12]。我が国には *Ostryopsis* を除く5属が存在する。同科樹木の木部成分の検索で，開環型，閉環型の骨格を有し，種々置換の異なる diarylheptanoids が単離されている。*Alnus* および *Betula* 両属の樹木は開環および閉環型の両型の化合物が存在する[9a]。しかも，木部，樹皮，葉等の異なる組織で異なる置換を示した。一方，*Carpinus* および *Ostrya* の樹種はこれまでに，閉環型の成分，[7,0]-metacyclophane 誘導体のみしか単離されていない[10,13]。クマシデ属樹木のサワシバ *C. cordata* Blume 材の抽出成分の検索で，これまでに6種の diarylheptanoids を単離した[13]。この中，4種はこれまでに報告されていない成分で，いずれも閉環型構造を有している。このことはカバノキ科の2つの tribus 間で興味ある結果を示し，分類学的見地，とくにケモタキソノミーの観点からも，これらの成分は指標成分として期待し得る。

カバノキ科樹木の枝葉中のフラボノイド配糖体も同科中に広く分布する成分であることが知られており[12]，サワシバ材中にも diarylheptanoid 以外にどのような成分が存在するか関心の高い所である。この見地から，さらに成分の検索を行い，6種の成分を単離した。これらは lignan, flavonoid, quinone および低分子量 phenol 類から成り，この中，前者3種の性状について報告する。

2. 実　　験

単離された化合物の融点は補正していない。これら成分の性状を知るため，旋光度および紫外 (UV)，赤外 (IR)

†: 本報は“クマシデ属 *Carpinus* の抽出成分”に関する研究の第III報である。第II報は日本木材学会誌に投稿中である。

線スペクトル，^{1}H-，^{13}C-核磁気共鳴(NMR)，質量(MS)スペクトルを測定した。上記分析方法は前報[13]に準じて行った。

2.1. 抽出および分別

本研究に供したサワシバ *C. cordata* Bl. (樹齢約120年，胸高径27 cm) 材は前報[13]と同じ材であり，北海道大学苫小牧地方演習林で採取したものである。剝皮した後，鉋削とした材は2 mmスクリーンを通過するように粉砕された。このように調製された木粉 (16.2 kg, od) は大型抽出筒中，95% EtOH で室温下72 hr 抽出した。抽出液をろ別した後，新しい溶媒を加え同様に抽出し，この操作を計3回繰越した。合した抽出液は減圧下，30°C～40°C で濃縮し95% EtOH 抽出物を得た (2.62% 対木粉)。EtOH 抽出物はさらに石油エーテル (LPE)，ジエチルエーテル，酢酸エチル，メチルエチルケトン，*n*-BuOH で継続抽出を行い，各可溶部と残渣に分別した (0.11%, 0.20%, 0.45%, 0.59%, 0.43%, 0.84% 対木粉)。ジエチルエーテル可溶部 (32 g) は酸性部を得るため飽和 $NaHCO_3$ 水溶液，10% Na_2CO_3 水溶液，1% KOH 水溶液で順次分別し，酸性部と中性部を得た (酸性部37.2%, 16.1%, 24.6%, 中性部17.5% 対ジエチルエーテル可溶部)。

2.2. 各成分の単離

ジエチルエーテル可溶部中，飽和 $NaHCO_3$ 水溶液分別物 (ca. 11 g) はシリカゲルカラム (ワコーゲル C-200, 4.3×46 cm) 上で，溶出溶媒ベンゼン/アセトン (=20/1～1/2 v/v) を用い300 mℓずつ溶出し，142フラクションを得た。これらの各フラクションは薄層クロマトグラフ [TLC, Si. gel: Merk Kieselgel 60 GF_{254}; 展開溶媒: トルエン/ギ酸エチル/ギ酸=5/4/1; 発色剤: ジアゾ化スルファニル酸 (DSA), 50% H_2SO_4 105°C 5 min 加熱] で検索し，11のフラクション (FI～FXI) にまとめた。

2.2.1. 化合物I: secoisolariciresinol diferulate

上記の溶出フラクション FV (763 mg) は再びシリカゲルカラム (1.7×55 cm) 上，ベンゼン/酢酸エチル (5/1, v/v) で6 mℓずつ溶出し540フラクションを得た。各フラクションは TLC で検索し6フラクション (FV-1～FV-6) にまとめた。この中，FV-6フラクションは溶媒を留去し，得られた粗物質をMeOHから再結晶すると無色針状晶を与えた (65.5 mg)。mp. 197～199°C。DSA, 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (2,4-DNPH) 陽性。$[\alpha]_D^{24}$ −56.2° (c=0.25 in acetone). UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 232.6(4.68), 290.6 (4.60), 326.6(4.75). UV $\lambda_{max}^{MeOH+N/10NaOH}$ nm (log ε): 205.0 (4.61), 310.2 (4.22), 380.0 (4.86). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}: 3380, 1690, 1590. MS m/z: 714(M^+, *Calcd. for* $C_{40}H_{42}O_{12}$ 714.2676. *Found.* 714.2667), 538 (M^+−176, *Calcd. for* $C_{30}H_{34}O_9$ 538.2202. *Found.* 538.2199), 520, 344, 326, 194, 189, 178, 137 (base ion). 化合物**I** (21.9 mg)は無水酢酸-ピリジンに溶解し，室温で一夜アセチル化した。反応液を氷水に注ぎ，生じた沈でんを集め95% EtOH から再結晶化すると無色板状晶としてテトラアセテートを生じた (**Ia**, 22.0 mg)。Tetraacetate **Ia**: ^{1}H-NMR (in $CDCl_3$) δ: 2.27 (2H, m, 2 H_β), 2.29, 2.32 (each 6H, s, 4 phenolic acetoxyl groups), 2.80 (4H, m, 4 H_α), 3.74 (6H, s, 2 -OCH_3), 3.84 (6H, *s*, 2 -OCH_3), 4.23, 4.45 (each 2H, *d*, *d*, *J*=5.5, 11 Hz, 4 H_γ), 6.38 (2H, *d*, *J*=16 Hz, 2 $H_{\beta'}$), 6.67 (4H, m, 2 H_2, H_6), 6.92 (2H, *d*, *J*=8 Hz, 2 H_5), 7.05 (2H, *d*, *J*=8 Hz, 2 $H_{5'}$), 7.13 (4H, *m*, $H_{2'}$, $H_{6'}$), 7.63 (2H, *d*, *J*=16 Hz, 2 $H_{\alpha'}$). Tetraacetate **Ia**: ^{13}C-NMR (in $CDCl_3$) δ: 20.7 (4 −$COCH_3$), 35.5 (2 C_α), 40.0 (2 C_β), 55.9, 56.0 (4 −OCH_3), 64.4 (2 C_γ), 11.5, 113.0 (2 C_2, $C_{2'}$), 117.9 (2 $C_{\beta'}$)121.1, 121.3 (2 C_6, $C_{6'}$), 122.5, 123.3 (2 C_5, $C_{5'}$), 133.2, 138.2 (2 C_1, $C_{1'}$), 138.6, 141.6 (2 C_4 $C_{4'}$), 144.6 (2 $C_{\alpha'}$), 151.0, 151.2 (2 C_3, $C_{3'}$), 166.8 (2 −C=O, $C_{7'}$), 168.7 (4 −$COCH_3$).

化合物**Ia**の加水分解。テトラアセテート**Ia** 34.0 mg を95% EtOH 5 mℓに溶解し，これに1N-NaOH 5 mℓを加え，温浴上で2 hr 還流した。冷却後，溶液は減圧下で1/3程度に濃縮した。これに40 mℓの水を加え，ついで塩酸酸性とし，ジエチルエーテル (50 mℓ×2) で抽出した。ジエチルエーテル溶液は少量の水で洗浄後，無水 Na_2SO_4 で乾燥，濃縮し分解物 (**DP**, 23.3 mg) を得た。分解物の TLC [展開溶媒: クロロホルム/メタノール (=10/1, v/v)] は主要な2成分 (Rf 0.60, 0.35) の存在を示した。この2成分の分離のため preparative TLC (上記溶媒) を用い各々を単離した。Rf 0.60 (**DP-1**, 7.8 mg), Rf 0.35 (**DP-2**, 8.8 mg)。DP-1 (secoisolariciresinol): mg 115−117°C. ^{1}H-NMR (in acetone-d_6+D_2O) δ: 1.94 (2H, *m*, 2 H_β), 2.66 (4H, *m*, 4 H_α), 3.53 (2H, *d*, *d*, *J*=5, 11 Hz, 2 H_γ), 3.65 (2H, *d*, *d*, *J*=4, 11 Hz, 2 H_γ), 3.77 (6H, *s*, 2 -OCH_3), 6.60 (2H, *d*, *d*, *J*=2, 8 Hz, 2 H_6), 6.68 (4H, *m*, H_2, H_5). MS m/z: 362 (M^+), 344 (M^+−18), 137 (base ion). DP-2 (ferulic acid): mp 170−171°C. ^{1}H-NMR (in acetone-d_6+D_2O) δ: 3.92 (3H, *s*, -OCH_3), 6.36 (1H, *d*, *J*=16 Hz H_β), 6.88 (1H, *d*, *J*=8 Hz, H5), 7.13 (1H, *d*, *d*, *J*=2, 8 Hz, H_6), 7.31 (1H, *d*, *J*=2 Hz, H_2), 7.59 (1H, *d*, *J*=16 Hz, H_α).

MS m/z: 194 (M^+), 193 (base ion), 177, 133, 89, 69. これらの分解物の分析結果は相当する標品の分析結果と一致する。2分解物の重量比はほぼ1:1であり，これは **DP-1/DP-2** のモル比1/2と一致する。

2.2.2. 化合物 **II**: Dihydroquercetin (DHQ, taxifolin)

前述のフラクション FVI (429 mg) も又再びシリカゲカラム (1.3×45 cm) により成分の分離を行った。溶出溶媒にシクロヘキサン/メチルエチルケトン (=2/1, v/v) を用い，6 mℓずつ溶出し，251 フラクションを得た。これも化合物 **I** の場合と同様，TLC で検索し5フラクション (FVI-1～FVI-5) にまとめた。この中，フラクション FVI-3 はシクロヘキシ/酢酸エチル (=1/1, v/v) を溶媒とする TLC で Rf 0.45 の成分を主要成分とすることが認められた。この成分を単離するため溶媒を留去した後，同展開溶媒による preparative TLC を行い，Rf 0.45 の成分を集めた。精製のため同操作をさらに繰返した。得られた成分はベンゼン/アセトン (=3/1) で，ついて同混合溶媒 (1/1) で再結晶を行い，化合物 **II** を無色針状晶として得た (51.3 mg)。mp 242－244°C. DSA, 2,4-DNPH 陽性。$[\alpha]_D^{28}$ +17.1° (c=0.52 in acetone). UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 230.4 (sh, 4.61), 290.2 (4.62), 335.0 (sh, 3.85). UV $\lambda_{max}^{MeOH+N/10\ NaOH}$ nm (log ε): 245.8 (4.36), 326.2 (4.74). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}: 3370, 1640. MS m/z: 304 (M^+, *Calcd. for* $C_{15}H_{12}O_7$ 304.0583. *Found.* 304.0600), 286 (M^+-18), 275 (M^+-29), 165, 153, 123 (base ion) (RDA fission), 152. 化合物 (21.2 mg) は常法により，無水酢酸—ピリジンでアセチル化を行うと無色板状晶として pentaacetate **II a** (26.5 mg) を生ずる。Pentaacetate **II a**: ^{1}H-NMR (in $CDCl_3$) δ: 2.05 (3H, *s*, alcoholic acetoxyl group), 2.30 (9H, *s*, 3 phenolic acetoxyl groups), 2.37 (3H, *s*, phenolic acetoxyl group), 5.43 (1H, *d*, *J*=12 Hz, H_3) 5.66 (1H, *d*, *J*=12 Hz, H_2), 6.61 (1H, *d*, *J*=2 Hz, H_8), 6.79 1H, *d*, *J*=2 Hz, H_6), 7.27 (2H, *m*, $H_{2'}$, $H_{5'}$), 7.39 (1H, *d*, *d*, *J*=2, 8 Hz, $H_{6'}$). Pentaacetate **II a**: ^{13}C-NMR (in $CDCl_3$) δ: 20.2, 20.6, 20.9, 21.1 (5 $-COCH_3$), 73.1 (C_3), 80.4 (C_2), 109.0 (C_8), 116.0 (C_{10}), 111.4 (C_6), 122.8 (C_2), 123.8 ($C_{5'}$), 125.3 ($C_{5'}$), 133.5 ($C_{1'}$), 142.1 ($C_{3'}$), 142.9 ($C_{4'}$), 151.4 (C_9), 156.4 (C_5), 162.3 (C_7), 167.8, 167.9, 169.0, 169.1 (5 ($-COCH_3$), 184.8 ($>C=O$, C_4). 既知標品との混融試験で，その融点の降下はなかった。

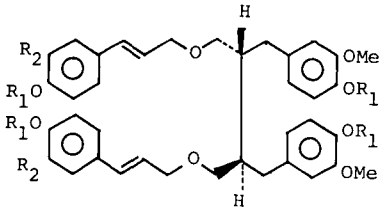
2.2.3. 化合物 **III**: 2,5-Dimethoxy-*p*-benzoquinone

ジエチルエーテル可溶部，飽和 $NaHCO_3$ 水溶液分別物のカラムクロマトグラフで得たフラクション F1 (412 mg) は再び溶出溶媒ベンゼン/酢酸エチル (=20/1, v/v) を用いシリカゲルカラム (1.4×50 cm) で分離を行った。6 m ずつのフラクションを集め 368 フラクションを得た。TLC で検索し，これを6フラクション (FI-1～FI-6) にまとめた。この中，FI-1 は黄色を呈し，溶媒を留去した後，クロロホルムから再結晶を繰返し，化合物 **III** を黄色針状晶として得た (3.9 mg)。mp 245°C (decomp.). 2,4-DNPH 陽性. UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 202.4 (3.37), 285.6 (4.29), 377.4 (3.37). UV $\lambda_{max}^{MeOH+N/10\ NaOH}$ nm (log ε): 242.0 (sh, 3.80), 285.0 (4.23), 376.4 (2.83). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}: 1710, 1660, 1640, 1610. ^{1}H-NMR (in $CDCl_3$) δ: 3.82 (6H, *s*, 2 $-OCH_3$), 5.86 (2H, *s*, H_3, H_6). MS m/z: 168 (M^+, *Calcd. for* $C_8H_8O_4$ 168.0422. *Found.* 168.0401), 140 (M^+-28), 138 (m/z 140－2H), 125 (M^+-CO, CH_3), 112 (m/z 140－28), 97 (M^+-71), 84 (M^+-69, CH_3), 80, 71 ($C_3H_3O_2$), 69 (C_3HO_2, base ion)。

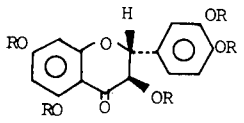
3. 結果および考察

サワシバ *C. cordata* 材エタノール抽出物，ジエチルエーテル可溶部から6種の diarylheptanoids と共に新たに6種の成分を単離した。これらは lagnan, flavonoid, quinone および低分子量 phenol 類であり，この中，前者3の化合物 (**I**, **II**, **III**) の化学的性質および構造について検討した。

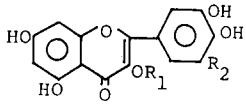
化合物 **I** および **II** は共に無色針状晶として得られ，光学活性でジアゾ試薬に対し陽性である。両者の UV の λ_{max} は 326.6 nm および 290.2 nm でアルカリで各々 380.0 nm および 328.0 nm へ深色移動をする。一方，化合物 **III** は UV λ_{max} を 285.0 nm および 376.4 nm に示すが，アルカリによる深色移動は示さない。また，この3種の化合物は共にカルボニル試薬に対し陽性であり，この事はこれら化合物 **I**, **II** および **III** の IR ν_{max} が各々 1690 cm^{-1}, 1640 cm^{-1}, 1660 cm^{-1} に観察される事から支持される。これらの呈色反応および分光分析の結果は **I** および **II** は phenol であり，又 **III** をも含め共役カルボニルの部分構造を有する事を示唆する。同材から得られた [7,0]-metacyclophanes (diarylheptanoid 閉環型) の MS スペクトルで，共に特徴的なベースイオンを m/z 211 に示す。これは 2,2′-dihydroxyhiphenyl 基に由来し，構造的特徴となっている。化合物 **I**, **II** および **III** の MS スペクトルのベースイオンは各々 m/z 137, 304 および 69 に観察され，同材の diarylheptanoids と



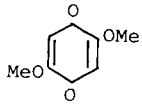
I: R_1=H, R_2=OMe
Ia: R_1=Ac, R_2=OMe
IV: R_1=R_2=H.



II: R=H
IIa: R=Ac



V: R_1=galactosyl, R_2=H.
VI: R_1=rhamnosyl, R_2=OH.
VII: R_1=*rutinosyl*, R_2=H.



III

構造的に異なる事を示す。

化合物**I**, m.p. 197～199°C, $[\alpha]_D^{24}$ −56.2°, は高分解能質量スペクトル(HR−MS)の結果より $C_{40}H_{42}O_{12}$ (M^+: m/z 714.2667) の分子式が与えられた。また，テトラアセテート**Ia**の ^{13}C-NMR スペクトルはアセチル基由来のシグナルの他に20のシグナルが観察される (Fig. 3)。これは化合物**I**の分子式より炭素20の部分構造が対称となっている事を示唆する。**I**の MS スペクトルで，分

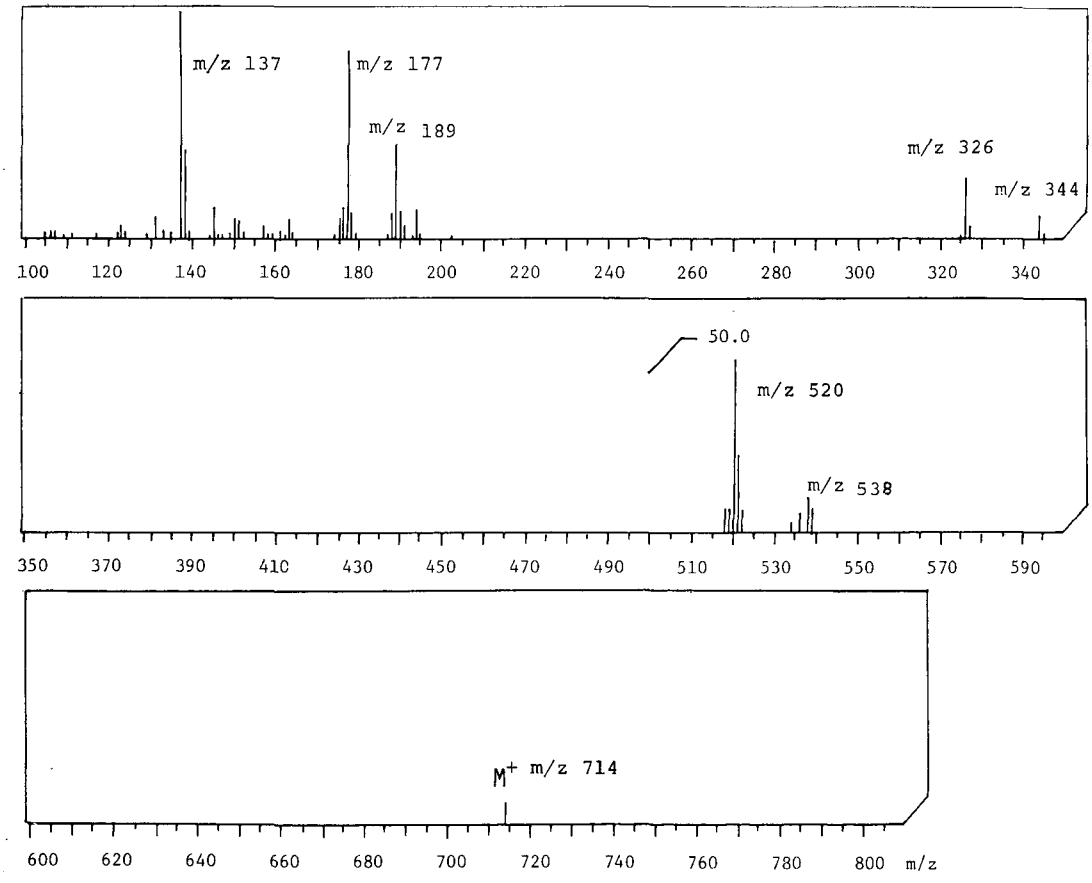


Fig. 1. Mass spectrum of secoisolariciresinol diferulate (Compound 1).

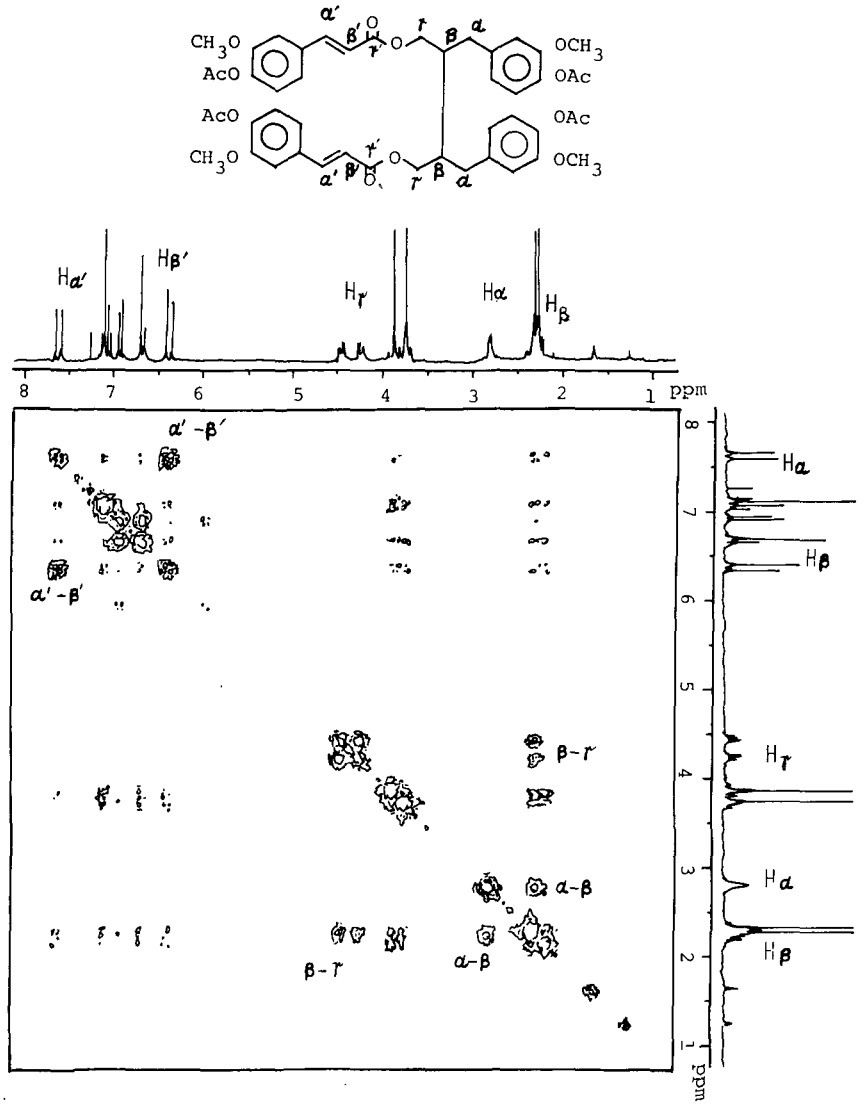


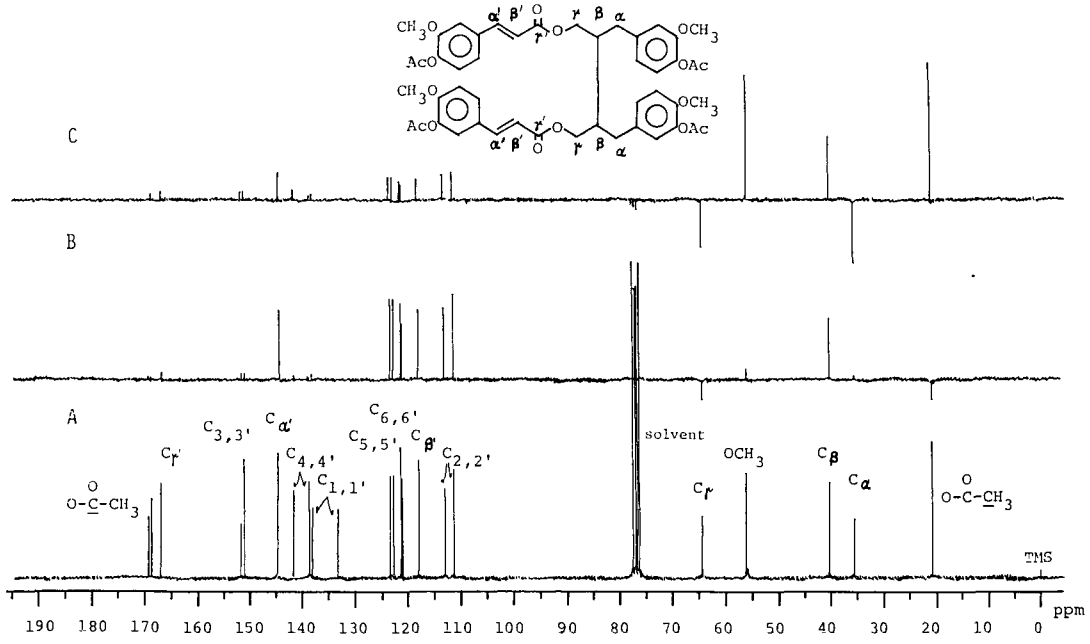
Fig. 2. ^{1}H–^{1}H COSY spectrum of secoisolariciresinol diferulate tetraacetate (Compound **I a**).

子イオン (M^+) m/z 714 の他，ベースイオン m/z 137 が明らかであり (Fig. 1)，これは 4-hydroxy-3-methoxybenzyl 基に由来する。これは又，グアヤシル基をもつ phenylpropane 誘導体の MS スペクトルにおいて，しばしばベースイオンとして認められている。その他の特徴的なイオンピークは m/z 538 および 520 に見られ，これは M^+ より feruloyl $C_{10}H_9O_3$ および ferulic acid $C_{10}HO_4$ 相当のフラグメントの脱離によって生じたものである。脱離フラグメントは各 m/z 177 および 194 のピークとして観察される。M^+ より 2 つの $C_{10}H_9O_3$ フラグメントの脱離を，ひき続き 1 モルの H_2O の脱離により生じたイオンピークが m/z 344 に，またさらに 1 モルの H_2O の脱離で生ずるフラグメントイオンが m/z 326 に現われる。この挙動はトドマツ *Abies sachalinensis* 材から単離された secoisolariciresinol di-*p*-coumarate **IV** の MS スペクトルに観察された[14]。また m/z 326 フラグメントより m/z 137 フラグメントの脱離で生ずるイオンピークが m/z 189 に認められる。この MS の結果は質量 362 の構造に 2 モルの ferulic acid が結合している事を示唆する。さらに構造の詳細を得るためテトラアセテート

Ia の ^{1}H-NMR および ^{13}C-NMR スペクトルを測定した。^{1}H-NMR スペクトルで，δ 2.29 および 2.32 の2つのシングレットは4個のフェノール性アセトキシル基由来のプロトンである。また，δ 3.74 および 3.87 の2つのシグナルは4個のメトキシル基に帰属される。また，アセトキシル基のシグナルに重複して2H分のプロトンが積算され，これは構造式 **Ia** の2個のメチンプロトン (H_β) に由来する。一方，δ 2.80 のマルチプレットは4Hと積算され，ベンジル位 (H_α) に帰属される。さらに，δ 4.23 (2H, *d*, *d*, J=5.5, 11 Hz) および 4.55 (2H, *d*, *d*, J=5.5, 11 Hz) のダブルーダブレットは γ 位プロトンと帰属された。低磁場にシフトした δ 6.38 (*d*, J=16 Hz) および 7.05 (*d*, J=16 Hz) のシグナルは構造式 **Ia** 中，シンナモイル単位に由来し，各々 $H_{\beta'}$ および $H_{\alpha'}$ のプロトンと帰属される。芳香核由来のプロトンは δ 6.92 (*d*, J=8 Hz, H_5) および 7.05 (*d*, J=8 Hz, $H_{5'}$) のダブレット，6.67 (*m*, H_2, H_6) および 7.13 ($H_{2'}$, $H_{6'}$) のマルチプレットとしてシフトする。このケミカルシフトの様子は1, 3, 4のトリ置換芳香核プロトンの挙動とよく一致する。また，化合物 **Ia** の側鎖由来の水素原子のケミカルシフトも化合物 **IV** テトラアセテートの ^{1}H-NMR スペクトル[14] のそれらとよく一致した。化合物 **Ia** の ^{13}C-NMR スペクトルの結果，上述したように4個のアセトキシル基由来の炭素原子のシグナル (δ 20.7 および 168.7) の他，20 のシグナルが認められる。この事は化合物 **I** の分子式 $C_{40}H_{42}O_{12}$ と与えられているので，構造の対称性が推定される。δ 35.5 (C_α), 40.0 (C_β), 64.4 (C_γ) の各シグナルは lignan 部分の側鎖の各炭素原子に，また，117.9 ($C_{\beta'}$), 144.6 ($C_{\alpha'}$), 166.8 ($C_{\gamma'}$) のシグナルは cinnamoyl 単位の側鎖炭素原子に帰属される (Fig. 3)。また δ 121.1 ～151.2 の領域の 10 シグナルは各々芳香核炭素原子に帰属された。

さらに構造の詳細を知るため，二次元 NMR (^{1}H-^{1}H COSY) スペクトルおよび INEPT 法が用いられた。**Ia** の ^{1}H-^{1}H COSY スペクトルで，H_β 原子は H_α および H_γ と各々相関スペクトルを与える。一方，$H_{\alpha'}$ と $H_{\beta'}$ の各水素原子の相関スペクトルも明らかである (Fig. 2)。**Ia** の構造中のメチル基およびメチン基は **Ia** の INEPT 法による各炭素原子のケミカルシフトにより決定された (Fig. 3)。これまでの結果に基づく **Ia** の構造の帰属が正しい事が明らかである。

従って，化合物 **I** は lignan の secoisolariciresinol と2モルの ferulic acid から成るエステルである。化合物 **I** の IR スペクルでエステルに由来する ν_{max} は 1690 cm^{-1} に観察される。このような比較的長波長側での ν_{max} は他の lignan エステル類にも認められる。



A: COM spectrum; B: PTspectrum with $J\simeq1(2J)$; C: PT spectrum with $J\simeq3/(4J)$.

Fig. 3. ^{13}C-NMR spectra of secoisolariciresinol diferulate tetraacetate (Compound **Ia**).

secoisolariciresinol di-*p*-coumarate **IV**, lariciresinol-*p*-coumarate および -ferulate[14] では各々 1685 cm^{-1}, 1690 cm^{-1}, 1700 cm^{-1} に認められる。また，**I a** の ^{1}H-NMR スペクトル中，アルコール性アセトキシル基のシグナルが観察されず，この結果は lignan secoisolariciresinol の末端カルビノール基と ferulic acid のカルボキシル基間でのエステル結合を示すものである。

この事を確認するため，**I a** 加水分解を行い分解生成物 **DP-1** (m.p. 115～117°C) および **DP-2** (m.p. 170～171°C) を得た。分解生成物の重量比は略々 1：1 である。**DP-1** および **DP-2** の ^{1}H-NMR スペクトルおよび MS スペクトルの結果 (実験 2. 2. 1 参照) は既知 secoisolariciresinol および ferulic acid のそれらと一致した。

これら分解物の生成重量比は **DP-1/DP-2**＝1/2 のモル比に相当する。

以上，化合物 **I**，テトラアセテート **I a**，加水分解生成物についての，呈色反応，旋光度，UV，IR，^{1}H-NMR，^{13}C-NMR スペクトルの結果は化合物 **I** が構造式 **I** である事に矛盾しない。従って化合物 **I** は secoisolariciresinol diferulate と同定した。サワシバ *C. cordata* 材から lignan の単離はこれまでに報告がない。またカバノキ科樹木木部中の lignan に関する知見は殆んどなく，かつては *Alnus glutinosa* 材より cyclolignan の (+) dimethoxyisolariciresinol xyloside が単離され[15]，最近，ハンノキ *Alnus japonica* 材から化合物 **I** が単離され[16]ているに過ぎない。lignan 類は flavonoids 同様，植物界に広く分布し，遊離，エステルおよび配糖体として存在し，また一部のものはその生理活性[17]で注目されている。lignan のエステルはこれまでにもトドマツ *Abies sachalinensis*[14]，カラマツ *Larix leptolepis*[18] から単離されいずれも光学活性である。しかし，カバノキ科を特徴づける diarylheptanoid 程，lignan の知見は少なく lignan の精査は今後の課題の 1 つである。

化合物 **II** は化合物 **I** と同様，ジエチルエール可溶部，酸性フラクションより無色針状晶とし単離された (mp 242～244°C, $[\alpha]_D^{23}$+17.1°)。DSA および 2,4-DNPH に対し，いずれも陽性である。**II** の UV スペクトルでの λ_{max} は 290.2 nm にあり，アルカリ存在下でそれは λ_{max} 326.2 nm へ深色移動する。また IR スペクトルでの特徴的な吸収帯は ν_{max} 3370 cm^{-1} (水酸基) および λ_{max} 1640 cm^{-1} (共役カルボニル基) に現われる。化合物 **II** の HR-MS スペクトルの結果は **II** に分子式 $C_{15}H_{12}O_7$ (m/z 304.0600) を与えた。MS スペクトルで m/z 304 に分子イオン (M^+) および m/z 123 にベースイオンの各ピークを示す。その他，m/z 286 (M^+-18), 275 (M^+-29), 165 (m/z 275－$C_6H_6O_2$) および 137 (m/z 165－29) の各フラグメントイオンピークが現われる。しかし，最も特徴的なフラグメントは RDA 開裂に伴う m/z 153, 152 および 123 の各イオンピークである (Fig. 4)。このフラグメンテーションは一般に flavonoid の MS スペクトルによく観察されるものであり，化合物 **II** の MS スペクトルから flavanone 構造が示唆される。常法によるアセチル化で **II** はペンタアセテート **II a** を生ずる。**II a** の ^{1}H-NMR スペクトルは δ 2.05 にアルコール性アセトキシル基 (3H, s), および 2.30 (9H, s) と (3H, s) に 4 個のフェノール性アセトキシル基に由来するプロトンのシグナルを示す。δ 5.43 (1H, *d*, *J*＝12 Hz, H_3) および 5.66 (1H, *d*, *J*＝12 Hz, H_2) のダブレットは構造式 **II a** の H_3 および H_2 の各水素原子に帰属され，そのカップリング定数 (*J*＝12 Hz) よりこの 2 つの水素原子は互に *trans* に配位している (Fig. 5)。このケミカルシフトは flavanonol の ^{1}H-NMR スペクトルによく観察される挙動であり上記の推定と一致する。一方，**II a** の ^{13}C-NMR スペクトル中，アセトキシル基の炭素原子に由来するシグナル (δ 20.2, 20.6, 20.9, 21.1, 167.8, 167.9, 169.9 および 169.1) を除き，15 のシグナルが観察される (Fig. 6)。δ 184.8 のシグナルはカルボニル基に由来し，呈色反応および IR スペクトルの結果とも一致する。δ 71.3 (C_3) および 80.4

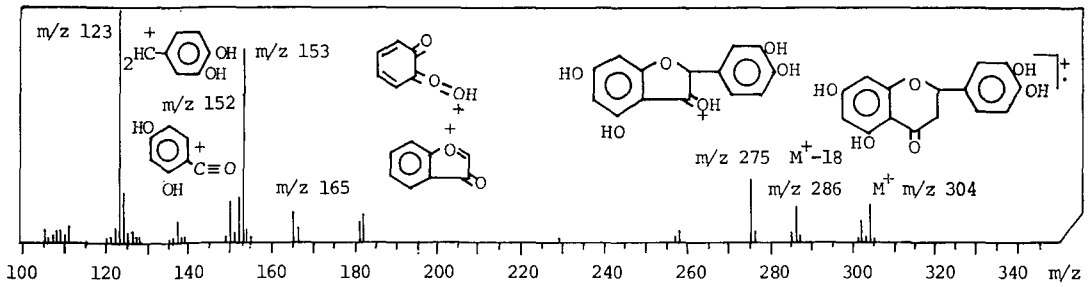


Fig. 4. Mass spectrum of dihydroquercetin (Compound **II**).

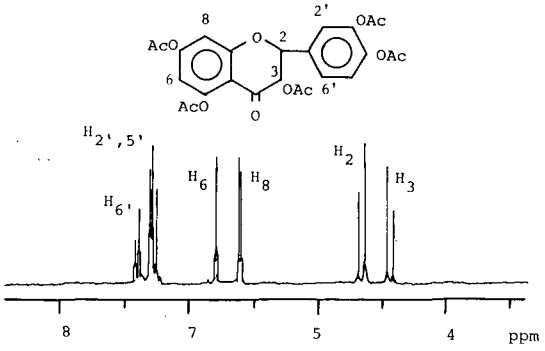
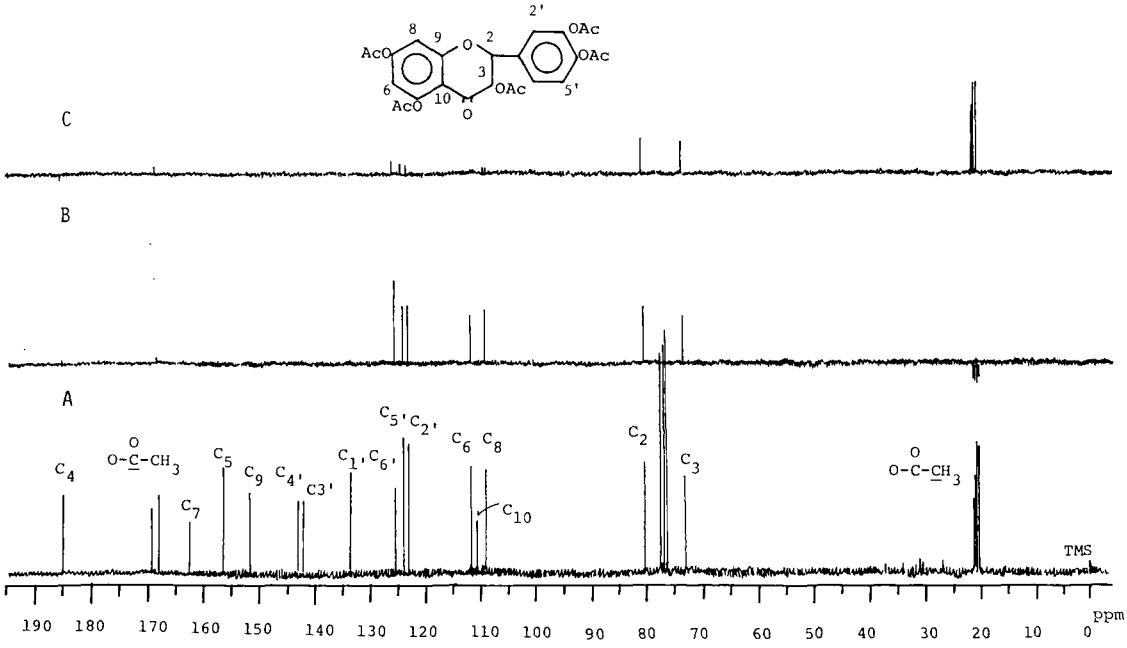


Fig. 5. ^{1}H-NMR spectrum of dihydroquercetin pentaacetate (Compound **II a**).

(C_2) のシグナルは構造式 II a の C_3 および C_2 の炭素原子に帰属される。さらに詳細な知見を得るため，**II a** の INEPT スペクトルを測定した。この方法はメチル，メチレンメチンの各基の特徴が把握でき，4級炭素由来のシグナルは現われない。Fig. 6 において，δ 73.1 および 80.4 のシグナルはメチン炭素原由来のものであり，上記の帰属は妥当であった。また **II a** の COM スペクトル (Fig. 6 A) での δ 116.0 (C_{10}), 113.5 ($C_{1'}$), 142.1 ($C_{3'}$), 142.9 ($C_{4'}$), 151.1 (C_9), 156.4 (C_5) および 162.3 (C_7) の各炭素原子のシグナルは観察されない (Fig. 6 B, C)。

これらの結果は構造式 II を支持し，化合物 **II** を dihydroquercetin (DHQ, taxifolin) と同定した。分光分析の結果もまた，既知 DHQ のそれら[19] と一致し，標品との混融試験で融点の降下は認められなかった。

サワシバ *C. cordata* 材からの flavonoid の単離は化合物 **I** と同様，これが最初である。flavonoids もまた lignans と同様，植物界に広く分布する成分であり，これまでにカバノキ科 *Betulaceae* の植物での flavonoids は flavone 配糖体として葉から単離されている。単離された配糖体は hyperin, quercetin-3-galactoside **V**, myricitrin, myricetin-3-rhamnoside **VI** および rutin, quercetin-3-rutinoside **VI** であり，これらを各々 A, B, C 型として分類学的指標成分とする試みがなされた[12]。A 型 (hyperin 群) に多くのハンノキ属 *Alnus*, アサダ *Ostrya japonica*, 一部のカバノキ属 *Betula*, クマシデ属 *Carpinus* が，B 型 (myricitrin 群) には全てのハシバミ属 *Corylus* および一部の *Carpinus, Betula* が，また C 型 (rutin 群) には *Betula humilis* のみが属するとされている。しかし，この flavone 配糖体を指標する場合，各樹種間，属間は勿論のこと，同科の2の tribus 間でかなり交錯しており，これらの化合物による化学的分類への寄与は必ずしも評価し難い。一方，樹木木部での flavonoids の存在する知見がこれまでに得られてい



A: COM spectrum; B: PTspectrum with $\Delta \simeq 1/(2J)$; C: PT spectrum with $\Delta \simeq 3/(4J)$.

Fig. 6. ^{13}C-NMR spectra of dihydroquercetin pentaacetate (Compound **II a**).

ないので，本研究でDHQの単離はケモタキソノミーの観点から関心があるばかりでなく，クマシデ属 *Carpinus* の樹種，さらには同科の他の属の樹種についても，一層，flavonoid の確認が急がれる。

化合物 **III** は **I** および **II** と同様，ジエチルエーテル可溶部から黄色針状晶として得られた [mp (decomp.) 245°C]。サワシバ *C. cordata* 材からこれまでに得られた15種の成分中，着色成分は僅かに2種であり，**III** はその中の1成分である。**III** のUVスペクトルでの λ_{max} は 285.0 nm ($\log \varepsilon$ 4.23) に，また λ_{max} 376.4 nm ($\log \varepsilon$ 2.83) に小さな吸収が認められ，後者はカルボニル基由来のものである。この事はまた，**III** の 2,4-DNPH に対する呈色反応が陽性であり，そのIRスペクトルにおける吸収帯 ν_{max} 1710 cm^{-1}, 1660 cm^{-1} の存在によっても確認される。その他，ν_{max} 1640 cm^{-1}, 1610 cm^{-1} は共役系の部分構造の存在を示唆する。しかし水酸基に由来する吸収帯は確認されなかった。化合物 **III** の ^{1}H-NMR スペクトルは非常に簡単な2本のシングレットを示すのみであった。δ 3.82 (6H, *s*) シグナルはメトキシル基に帰属され，積算されたプロトンは6Hに相当し，2つのメトキシル基の存在を示す。一方，δ 5.86 (2H, *s*) のシングレットは2Hと積算され，オレフィンプロトンと帰属できる。また，化合物 **III** の HR-MS スペクトルは **III** の分子式が $C_8H_8O_4$ (M^+, m/z 168.0401) である事を示した。呈色反応，UV，IR および NMR スペクトルの結果，**III** は *p*-benzoquinone 誘導体と推定された。

III の MS スペクトルは m/z 168 (M^+) の他，m/z 69 にベースイオンピークを与えた。主なフラグメントは m/z 140, 138, 97 および 69 に生ずる各イオンピークである。この結果と分子式より **III** は 2,5-dimethoxy-*p*-benzoqunone と考えられる。methoxy-*p*-benzoquinone の MS フラグメンテーションはアルキル置換体のように明確に帰属し難い。2,6- および 2,5-dimethyl-*p*-benzoquinone の MS スペクトルで前者の分子イオン m/z 136 は同時にベースイオンであるが，後者は開裂した m/z 68 がベースイオンであり，これは M^+ の 1/2 の質量数に相当する。メトキシ置換誘導体は更に複雑に開裂するが，一般に共通イオンとして M^+ より2分子の CO とメチル基が脱離して生ずる M^+-71 が，さらにこれより CO が脱離して生ずる M^+-99 のイオンの出現が指摘されている[20]。化合物 **III** の MS スペクトルで，M^+-71 のフラグメントは m/z 97 (14.4%) に現われ，脱離した m/z 71 イオン (11.6%) も確認できる。m/z 97 よりさらに CO にの脱離で生ずる M^+-99 は m/z 69 (100%) にベースイオンとして生ずる。一般的な CO 脱離によるフラグメントは m/z 140 (5.3%) に，さらに 2H の脱離によるイオンピークが m/z 138 (7.9%) に認められる。また，m/z 125 (9.6%) のイオンは M^+ より CO，メチル基の脱離によって生ずる。2,5-dimethyl-*p*-benzoquinone に見られる分子イオンの 1/2 に相当するフラグメント (m/z 68) は，化合物 **III** の場合，m/z 84 であるがそのスペクトルには観察されない。M^+-99 のフラグメントがベースイオンとして生ずる例は 2,5-dimethoxy-3,6-dimethyl-*p*-benzoquinone の場合に確認される[20]。以上，分光分析の結果とあわせて，化合物 III は構造式 **III** と一致する。従って **III** は 2,5-dimethoxy-*p*-benzoquinone と推定した。

これまでサワシバ *C. cordata* を含めカバノキ科 *Betulaceae* 樹木木部からの *p*-benzoquinone 類の単離は知られていない。化合物 **III** の異性体 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone について詳細な検討を加えていないので，**III** について構造に関しさらに検討すべきであろう。

4. 結　　言

カバノキ科 *Betulaceae*，クマシデ属 *Carpinus*，サワシバ *C. cordata* 木部の抽出成分の検索を行い，これまでに同科に特徴的な指標と考えられる diarylheptanoid を単離し報告した[13]。さらに上記成分以外の化合物の特徴を知るため，同材の抽出成分を精査し，新たに6種の化合物を単離した。この中，3種の化合物 **I**，**II** および **III** はその物理化学的性質を検討した結果，各々，secoisolariciresinol diferulate **I**，dihydroquercetin **II** および 2,5-dimethoxy-*p*-benzoquinone **III** と同定され，サワシバ *C. cordata* 材については初めての単離である。lignan および flavonoid は広く植物界に見られる成分であるが，カバノキ科 *Betulaceae* に関してはその存在の報告は極めて少ない。しかし，化合物 **I** はハンノキ *Alnus japonica* 材から diaryheptanoid と共に単離されている。また同科の他の属樹木の葉より flavone 配糖体が得られているが木部よりの flavonoid はこれまで得られていない。これらの点を考慮するなら，同科の多く樹木木部中に lignan や flavonoid が広く存在する可能性がたかい。本研究で得られた知見のみで，ニレ属 *Ulmus* の lignan[21] やサクラ属 *Prunus* の flavonoid[2] のように特徴づけることは難しい。しかし，化合物 **I**，**II** およびこれらの同族体はクマシデ属 *Carpinus* をはじめカバノキ科 *Betulaceae* の他の属にわたって，diarylheptanoid と同様，1つの指標成分としての意義を有す

るものと考えられる。

引 用 文 献

1. ERDTMAN H.: "Chemical Plant Taxonomy", Ed., T. SWAIN, Academic Press, p. 89-125 (1963)
2. HASEGAWA, M.: "On the Flavonoids in *Prunus* Woods" *J. Jpn. For. Soc.*, **40**, 111-121 (1958)
3. HILLIS, W. E.: "Wood Extractives and Their Significance to the Pulp and Paper Industries", Ed., W. E. HILLIS, Academic Press, p. 367-403 (1962)
4. SANDERMANN, V. W., M. LÜTHGENS: "Untersuchungen uber Verfärbungen von Hölzer", Holz als Roh- und Werkstoff, **11**, 435-440 (1953); SANDERMANN, V. W., H. H. DIETRICHES, M. PUTH: Über die Trocknungsinhibierung von Lackanstrichen auf Handelshölzern", *ibid.*, **18**, 63-75 (1960)
5. FREY-WYSSLING, A., H. H. BOSSHARD: "Cytology of the Ray Cell in Sapwood and Heartwood", *Holzforschung*, **13**, 129-137 (1959)
6. HILLIS, W. E.: "Factors Influencing the Formation of Phloem and Heatwood Polyphenols", *ibid.*, **14**, 105-110 (1960)
7. 笹谷宣志: a) "樹幹内における抽出成分の分布と堆積 (第I報) —カツラ材のフラボノイドの分布—", 北大演研報, **44**, 381-394 (1987); b) "樹幹内における抽出成分の分布と堆積 (第II報) —カラマツ樹幹のフェノール成分—", 同誌, **44**, 1417-1434 (1987)
8. 笹谷宣志: "木材利用の化学.—木材の化学識別—", 今村博之他編, 共立出版, p. 105-119 (1983)
9. SASAYA, T., K. IZUMIYAMA: a) "Phenolic Compounds from the Wood of Keyamahannoki *Alnus hirsuta* Turcz. (*Betulaceae*)", *Res. Bull. Exp. For.* Hokkaido Univ., **31**, 23-50 (1974): b) SASAYA, T.: "Diarylheptanoids of *Alnus hirsuta* Turz. (Betulaceae)", *ibid.*, **42**, 191-206 (1985)
10. 安江保民: "アサダ材の抽出成分に関する研究—主としてAsadaninおよびその同族体の化学構造について—", 林試研報, No. 209, 77-168 (1968)
11. MALTERUD, K. E., T. ANTHOSEN, J. HJORTAS: "14-Oxa-metaparacyclophane from *Myrica gale* L. —A new Class of Natural Products—", *Tetrahedron Letters*, No. 35, 3069-3072 (1976)
12. HEGNAUER, H.: "Chemotaxonomie der Pflanzen" (III), Birkhaüser Verlag, p. 255-268 (1964)
13. SAWA, S., T. SASAYA, S. OZAWA: Extractives of the Genus *Carpinus* I. Diarylheptanoids of sawashiba *Carpinus cordata* Blume wood (1).: *Mokuzai Gakkaishi*, **34**, 162-168 (1988)
14. TAKEHARA, T., T. KOBAYASHI, T. SASAYA: "Extractives of Todomatsu *Abies sachalinensis* Masters I. Lignin esters in the compression and opposite woods from leaning stem.", *ibid.*, **26**, 274-279 (1980)
15. WINGES, K.: "Über einige neue Lignane und stereochemische Zusammenhänge in der Lignangruppe", *Chem. Ber.*, **94**, 2522-2531 (1960)
16. NOMURA, M., T. TOKOROYAMA, T. KUBOTA: "Biarylheptanoids and Other Constituents from Wood of *Alnus japonica*", *Phytochemitry*, **20**, 1097-1104 (1981)
17. HARTWELL, J. L., J. M. JOHNSON, D. B. FITZGERALD, M. BELKIN: Podophyllotoxin from Junipers Species; Savinin. *J. Amer. Chem. Soc.*, **75**, 235-236 (1953)
18. 笹谷宣志, 竹原太賀司, 三木啓司, 榊原 彰: "カラマツ *Larix leptolepis* Gord. のフェノール成分", 北大演研究, **37**, 837-860)1980)
19. 竹原太賀司, 笹谷宣志: "カラマツの抽出成分に関する研究. 辺材のフェノール成分", 同誌, **36**, 681-694 (1979)
20. BOWIE, J. H., D. W. CAMERON, R. G. F., GILES, H. WILLIAMS: Studies in Mass Spectrometry. Part V. Mass Spectra of Benzoquinone.", *J. Chem. Soc.*, (B), 335-339 (1966)
21. ROWE, J. W., M. K. SEIKEL, D. N. ROY, E. JORGENSEN: "Chemotaxonomy of *Ulmus*", *Phytochemistry*, **11**, 2513-2517 (1972)

Summary

The ethanol extract of sawashiba *Carpinus cordata* Blume (*Betulaceae*) wood was investigated. By column chromatography, three compound **I**, **II** and **III** in addition to diarylheptanoids were isolated from the diethyl ether solubles of the ethanol extract. The structural elucidation of these compounds was determined by spectroscopic analyses and application of two dimentional NMR (^1H-^1H COSY) and INEPT spectra. Color reaction with 2, 4-dinitrophenylhydrazine for these compounds was positive, indicating the existence of carbonyl group as functional moiety. Also, it was verified by the results that the IR spectra of these compounds revealed the absorption maxima at 1640-1710 cm^{-1} area. On the other hand, **I** and **II** were positive to diazotized sulfanilic acid, but **III** was negative.

The formula $C_{40}H_{42}O_{12}$ for compound **I** (M^+ : m/z 714.2667) wss proposed from the result of the high resolution mass spectrum (HR-MS). ^{13}C-NMR spectrum of tetraacetate **Ia** showed twenty signals except for signals due to acetoxyl carbon atoms (Fig. 3). This suggests that compound **I** contains two symmetrical partial structure consisting of twenty carbon atoms. In the MS spectrum of **I**, a base ion revealed at m/z 137 derived from 4-hydroxy-3-methoxybenzyl grouping, and other prominent ions observed at m/z 177 and 344 which were assigned to feruloyl $C_{10}H_9O_3$ and M^+- (2× $C_{10}H_9O_3$ and H_2O) moieties (Fig. 1). Also, a ion peak at m/z 189 caused by the release of two moles of water from lignan secoisolariciresinol, followed by the elimenation of $C_8H_9O_2$ fragment. Hence, it suggests that **I** comprises of a lignan and ferulic acid. The signal due to alcoholic acetoxyl group could not be found in the ^1H-NMR spectrum of tetraacetate **Ia** indicating lack of free alcoholic hydroxyl group in the structure **I**. Details of the structural assignment for **I** are verified by the results of ^1H-^1H COSY and INEPT spectra of **Ia** (Figs. 2 and 3). Furthermore, alkaline hydrolysis of **Ia** gave a mole of secoisolariciresinol and two moles of ferulic acid. From these facts, ester bond in structure **I** must be formed between carbinol group in lignan and carboxyl group in ferulic acid. Consequently, compound **I** is to be secoisolariciresinol diferulate.

Compound **II** (M^+ : m/z 304.0600) was formulated $C_{15}H_{12}O_7$ based on the result of the HR-MS. In the MS spectum, prominent ion peaks revealed at m/z 153, 152 and 123 (base ion) (Fig. 4). These ions caused by RDA fission, and it suggests that **II** has the structure of flavonoid. Details of chemical structure for **II** were well comfirmed by the evidences of the ^1H-NMR, ^{13}C-NMR and INEPT spectra for pentaacetate **IIa** (Figs. 5 and 6). The results obtained are consisted with assignment that compound **II** is to be dihydroquercetin (taxifolin).

The formula $C_8H_8O_4$ of compound **III** (M^+ : m/z 168.0401) was given by the result of the HR-MS. The only two signals were observed at δ 3.82 and 5.86 in the ^1H-NMR spectrum of **III**. The former is due to two methoxyl groups, and the latter is assigned to two olefinic protons. Also, the MS spectrum of this compond revealed prominent ion peaks at m/z 97 and 69 (base ion) corresponding to (M^+-71) and (M^+-99) fragments, which were characteristic of fragmentation of methoxy-*p*-benzoquinones. From these results, compound **III** therefore is estimated to 2, 5-dimethoxy-*p*-benzoquinone.

Thus far, these compounds from wood of sawashiba *C. cordata* Blume has not been isolated. Also, the information on the existence of lignans and flavonoids in wood of tree at *Betulaceae* little is available in literature. However, these compounds appear to be useful taxonomic marker in *Betulaceae* such as diarylheptanoids, which are characteristic compounds in the same family, since these compounds are widespread in many trees.